

Fragen Übung 10 - Methoden der Molekulargenetik

1.) Erklären Sie das Prinzip der Sanger-Sequenzierung. Klären Sie dabei folgende Punkte:

- a) Welche "besondere" Art von Nukleotiden wird verwendet und welche Funktion haben diese bei der Sequenzierungsreaktion?
- b) Wie werden die Reaktionsprodukte analysiert bzw. visualisiert?
- c) Welche Arten der DNA-Markierung hat die radioaktive Markierung bei der Sequenzierung verdrängt und welchen Vorteil bietet diese Methode?

2.) Mittlerweile ist die Sanger Methode die am häufigsten genutzte Methode zur Sequenzierung.

- a) Welche andere Methode zur Sequenzierung kennen Sie noch?
- b) Erklären sie die Prinzipien dieser Art der Sequenzierung.
- c) Gibt es Umstände unter denen eine Sanger Sequenzierung nicht möglich ist und die alternative Form der Sequenzierung verwendet wird?

3.) Sie haben ein kloniertes DNA Fragment welches unter anderem eine kodierende Sequenz umfasst.

- a) Erklären Sie wie man mittels Nuklease-S1-Kartierung das 5' bzw. 3' Ende der korrespondierenden mRNA bestimmen kann.
- b) Erklären Sie den alternativen Ansatz zur Kartierung der mRNA die sogenannte Primerverlängerung ("Primer-Extension").

4.) Erklären Sie die Grundprinzipien der PCR. Klären sie in diesem Zusammenhang:

- a) Welche Reaktionskomponenten eingesetzt werden.
- b) Welche Temperaturen in den verschiedenen Phasen der PCR vorliegen und was bei diesen Temperaturen passiert.
- c) Welche Produkte bei der PCR entstehen und wie sich diese bei der PCR vermehren (lineare oder exponentielle Amplifikation)

5.) Sie wollen mittels PCR ein DNA Fragment amplifizieren (Anfang und Ende des Fragments sind schematisch dargestellt). Welches der folgenden Primerpaare können Sie für diese PCR benutzen?

Zu amplifizierendes Fragment (DNA Doppelstrang)

```
5' GGCTAAGATCTGAATTTTCCGAG . . . TTGGGCAATAATGTAGCGCCTT 3'
3' CCGATTCTAGACTTAAAAGGCTC . . . AACCCGTTATTACATCGCGGAA 5'
```

Primerpaare

- a) 5' GGAAAATTCAGATCTTAG 3' ; 5' TGGGCAATAATGTAGCG 3'
- b) 5' GCTAAGATCTGAATTTTC 3' ; 3' ACCCGTTATTACATCGC 5'
- c) 3' GATTCTAGACTTAAAGGC 5' ; 3' ACCCGTTATTACATCGC 5'
- d) 5' GCTAAGATCTGAATTTTC 3' ; 5' TGGGCAATAATGTAGCG 3'